

## 柴胡总皂甙对戊四氮慢性点燃大鼠痫性发作及脑电图的影响

谢炜<sup>1</sup>, 鲍勇<sup>1</sup>, 于礼建<sup>1</sup>, 侯光男<sup>2</sup>, 谭红香<sup>3</sup> (南方医科大学<sup>1</sup> 中医药学院内科教研室, <sup>2</sup> 南方医院神经内科脑电图室, 广东广州 510515; <sup>3</sup> 广州市儿童医院神经康复科, 广东广州 510120)

**摘要:**目的 评价柴胡有效成分中柴胡总皂甙对戊四氮(PTZ)慢性点燃大鼠痫性发作及脑电图的影响。方法 将 48 只健康 SD 大鼠随机等分为 6 组, 即空白组、生理盐水组、丙戊酸钠(VPA)组和柴胡总皂甙高、中、低 3 种剂量组, 除空白组不做处理外, 其他组采用腹腔注射 PTZ 进行慢性点燃造模, 造模同时给予以上不同处理因素, 连续 4 周, 在此期间记录大鼠痫性发作级别及次数, 最后描记大鼠脑电图。结果 柴胡总皂甙高、中、低 3 个剂量组在实验 2 周时可以降低大鼠的痫性发作率, 其中以高剂量组显著 ( $P<0.05$ ), 柴胡总皂甙高剂量组应用 4 周时能明显降低 PTZ 慢性点燃大鼠的点燃率 ( $P<0.05$ ), 并明显降低痫性发作级别 ( $P<0.01$ ); 各组间脑电图也存在一定差异。结论 柴胡总皂甙可拮抗 PTZ 慢性点燃大鼠的痫性发作, 并有一定的对抗 PTZ 慢性点燃作用。

**关键词:** 柴胡总皂甙; 戊四氮; 癫痫; 慢性点燃; 脑电图

中图分类号: R285.5; R742.1 文献标识码: A 文章编号: 1673-4254(2006)02-0177-04

## Effect of saikosaponins on epileptic seizure and EEG in pentetrazole-induced chronic kindling rats

XIE Wei<sup>1</sup>, BAO Yong<sup>1</sup>, YU Li-jian<sup>1</sup>, HOU Guang-nan<sup>2</sup>, TAN Hong-xiang<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Internal Medicine, School of Traditional Chinese Medicine, <sup>2</sup>Center of EEG, Department of Neurology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; <sup>3</sup>Department of Neurological Rehabilitation, Guangzhou Children's Hospital, Guangzhou 510120, China

**Abstract:** **Objective** To study the effect of saikosaponins, the active ingredients of *Bupleurum chinense* DC, on epileptic seizure and EEG of pentetrazole (PTZ)-induced chronic kindling rats. **Methods** Forty-eight healthy Sprague-Dawley rats were randomly divided into 6 equal groups, namely the blank control group, normal saline (NS) group, sodium valproate (VPA) group, and 3 saikosaponins groups of high, medium and small doses. Except those in the blank control group, the rats in the other groups were all given different treatments as specified prior to intraperitoneal PTZ injection to induce kindling on a daily basis for 4 consecutive weeks. Epileptic seizures of the rats were recorded during the treatment and EEG recorded at the end of the treatments. **Results** Seizure frequency in the 3 saikosaponins groups decreased 2 weeks later, which was especially obvious in the high-dose group ( $P<0.05$ ). The kindling rate was significantly lower in high-dose saikosaponins group than in the other treatment groups after 4 weeks of the treatment ( $P<0.05$ ), with also less intense seizure onset ( $P<0.01$ ) and differences in the wave form of EEG. **Conclusion** Saikosaponins can inhibit PTZ-induced epileptic seizure in kindling rats and antagonize the kindling effect of PTZ.

**Key words:** saikosaponins; entetrazole; epilepsy; chronic kindling; electroencephalogram

癫痫是不同病因引起的一种慢性神经系统常见病。WHO 曾在我国农村地区进行癫痫流行病学调查, 显示其患病率为 7.0%, 其中活动型癫痫的患病率为 4.6%, 与其他各国报道基本一致<sup>[1,2]</sup>。以此率推算, 我国约有 900 万人罹患癫痫, 其中 600 万人每年都有发作。中医药治疗癫痫历史悠久, 多数主张从“痰”论治。本课题组近年来提出“从肝论治”的观点, 应用“柴胡疏肝汤”治疗原发性癫痫取得较好疗效<sup>[3]</sup>。研究发现方中君药“柴胡”具有一定的镇静和抗惊厥作用<sup>[4]</sup>,

其有效成分柴胡皂甙及挥发油有较强的抗惊厥作用<sup>[5,6]</sup>。为进一步探讨中药柴胡的抗癫痫作用, 作者以柴胡总皂甙为处理因素, 采用戊四氮(PTZ)慢性点燃癫痫大鼠模型, 观察其痫性发作行为及脑电图的变化, 探讨柴胡总皂甙抗癫痫的效应。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 SPF 级 Spague-Dawley 大鼠 48 只, 体质量(200±20) g, 雌雄各半, 购自南方医科大学实验动物中心, 合格证号: 2004B023, 饲养于南方医院动物所。大鼠随机分为 6 组: A 组为空白对照组, B 组为生理盐水组, C 组为丙戊酸钠(VPA)组, D、E、F 组分别为柴胡皂甙高、中、低剂量组, 每组 8 只(雌雄各半)。

收稿日期: 2005-10-17

基金项目: 广东省中医药局科研课题(401001; 1040091)

Supported by Guangdong Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine (401001, 1040091)

作者简介: 谢炜(1964-), 男, 硕士, 副教授, 副主任医师, 在读博士研究生, 电话: 020-61641672, E-mail: xieweizn@fimmu.com

1.1.2 药品、试剂与仪器 柴胡总皂甙粉购自上海医药工业研究院,批号:050106;VPA 为湖南湘中制药有限公司生产,批号:050123;PTZ 为 Sigma 公司生产,批号:064K0686;EEG-4418K 型脑电图仪(NIHON KOHDEN 公司)。

1.2 方法

1.2.1 药液配制 应用生理盐水准确配制 PTZ 溶液(浓度为 32.50 mg/ml),柴胡总皂甙高、中、低 3 种浓度溶液分别为 15.60、7.80 和 3.90 mg/ml,VPA 溶液浓度为 17.50 mg/ml。冷藏备用。

1.2.2 PTZ 慢性点燃癫痫大鼠造模及处理 各组均选用灌胃法给予处理药物,A 组与 B 组给予等容积生理盐水;C 组按 87.5 mg/kg 给予 VPA 溶液;D、E 和 F 组分别按照 156、78、39 mg/kg 给予柴胡皂甙溶液(相当于柴胡生药 40、20、10 g 中所含总皂甙)。每日上午 8 时左右给药,给药 1 h 后,A 组按 10 ml/kg 生理盐水腹腔注射,其他各组按 32.5 mg/kg 腹腔注射 PTZ 溶液,1 次/d,连续 4 周。腹腔注射 PTZ 溶液后观察记录大鼠痫性发作级别。痫性发作分级采用 Racine 标准<sup>[7]</sup>,即 0 级:无发作反应;1 级:节律性口角、耳或面部肌肉抽动阵挛;2 级:点头并伴随更严重的面部肌肉抽动阵挛;3 级:出现前肢阵挛但不伴随直立;4 级:前肢阵挛伴随直立;5 级:全身强直阵挛发作而跌倒。凡是连续至少 5 次 2 级以上痫性发作的大鼠被认为慢性点燃致痫成功<sup>[8]</sup>。

1.2.3 脑电图描记 4 周结束时,以上每组随机各取 4 只大鼠进行脑电图描记。电极埋置方法参照文献<sup>[6]</sup>方法。在排除手术可能造成的损伤后,采用 EEG-4418K 型脑电图仪描记各组大鼠脑电图,纸速 30 mm/s,时间常数 0.1s,滤波 35 Hz,增益 10  $\mu$ V/mm,定标为 50  $\mu$ V/5 mm,连续描记 5 min。

1.3 统计学处理

统计应用 SPSS10.0 软件。计数资料及率的比较用卡方检验,等级资料比较用等级资料的秩和检验,计量资料用计量资料的秩和检验。

2 结果

2.1 各组 PTZ 慢性点燃致痫大鼠痫性发作率、点燃率的变化

腹腔注射后有痫性发作的大鼠计算其发作率,以 B 组最高为 100%,其他各组发作率较低,其中 2 周时 D 组与 B 组相比较有显著性差异 ( $P < 0.05$ ),结果见表 1。4 周时 B 组点燃率达到 100%,而 C 组和 D、E、F 组点燃率都低于 B 组,其中 D 组与 B 组比较有显著性差异( $P < 0.05$ ),结果见表 2。

表 1 柴胡总皂甙对大鼠痫性发作率的影响

Tab.1 Effect of saikosaponins on seizure frequency in the rats (n=8)

Group	Rats of seizure (n)		Seizure frequency (%)			
	2 weeks	4 weeks	2 weeks	P value*	4 weeks	P value*
A	0	0	0		0	
B	8	8	100.00		100.00	
C	5	8	62.50	0.20	100.00	
D	3	5	37.50	0.03	62.50	0.20
E	4	6	50.00	0.08	75.00	0.45
F	4	6	50.00	0.08	75.00	0.45

Group A: Blank group; Group B: Normal saline group; Group C: Sodium valproate group; Group D: High-dose saikosaponins group; Group E: Medium-dose saikosaponins group; Group F: Small-dose saikosaponins group. \*P value for comparison with group B.

表 2 柴胡总皂甙对致痫大鼠点燃率的影响

Tab.2 Effect of saikosaponins on kindling rate in the rats (n=8)

Group	Rats of kindling (n)		Kindling rate (%)			
	2 weeks	4 weeks	2 weeks	P value*	4 weeks	P value*
A	0	0	0		0	
B	3	8	37.50		100.00	
C	1	4	12.50	0.56	50.00	0.08
D	1	3	25.00	0.56	37.50	0.03
E	3	5	37.50	1.00	62.50	0.20
F	2	5	25.00	1.00	62.50	0.20

\*P value for comparison with group B

2.2 各组 PTZ 慢性点燃致痫大鼠每周痫性发作总例次的变化

根据各组每周的痫性发作例次连线绘制成图 1。可以看出各组 4 周内发作例次的总体趋势:B 组随时间延长,痫性发作总例次增加;C、D、E、F 组线条平缓而较靠近 X 轴。前 3 周各组大鼠发作例次虽有差异但无统计学意义( $P > 0.05$ );第 4 周时各组存在显著性差异( $P < 0.05$ ),说明 C、D、E、F 组能减少大鼠痫性发作的总例次。

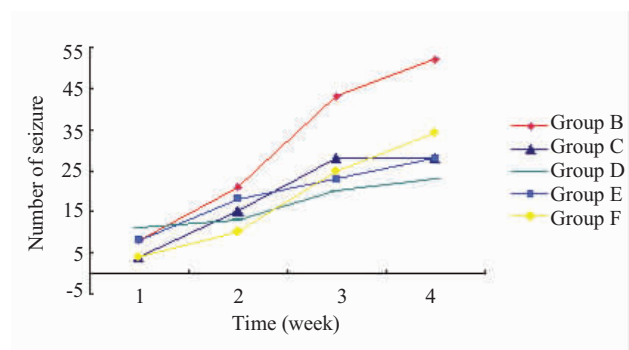


图 1 柴胡总皂甙对 PTZ 慢性点燃大鼠每周总发作例次的影响

Fig.1 Effect of saikosaponins on weekly seizure onsets in PTZ-induced kindling rats

### 2.3 各组 PTZ 慢性点燃致痫大鼠痫性发作级别的变化

PTZ 腹腔注射 4 周内,各组大鼠痫性发作级别结果比较存在显著性差异 ( $P < 0.01$ , 表 3), 提示柴胡总皂甙和 VPA 能降低 PTZ 致痫大鼠的痫性发作级别。

### 2.4 对大鼠脑电图的影响

各组大鼠脑电图见图 2。A 组大鼠皮质及海马脑电图以  $\alpha$ 、 $\beta$  波即基础波为主,无明显节律性;B 组大鼠出现散在性痫波,多为棘波、尖波、棘慢复合波,出现大量痫性放电;C、D 组大鼠无棘波、尖波、棘慢复合波等出现,基本表现为  $\alpha$ 、 $\beta$  波;E 和 F 组可以见到少量的散在的棘波、尖波出现。VPA 和柴胡总皂甙高、中、低剂量组均能抑制慢性点燃大鼠的痫性放电,以

VPA 和柴胡总皂甙高剂量组明显。

表 3 柴胡总皂甙对 PTZ 慢性点燃模型发作级别的影响

Tab.3 Effect of saikosaponins on seizure grades in PZT-induced chronic kindling rats

Group	Seizure level						$\chi^2$	P value*
	0	1	2	3	4	5		
A	0	0	0	0	0	0	152.03	0.00
B	100	0	42	50	28	4		
C	149	0	47	21	7	0		
D	157	0	26	27	12	2		
E	147	0	20	22	30	5		
F	151	0	35	18	17	3		

\*By Kruskal-Wallis test

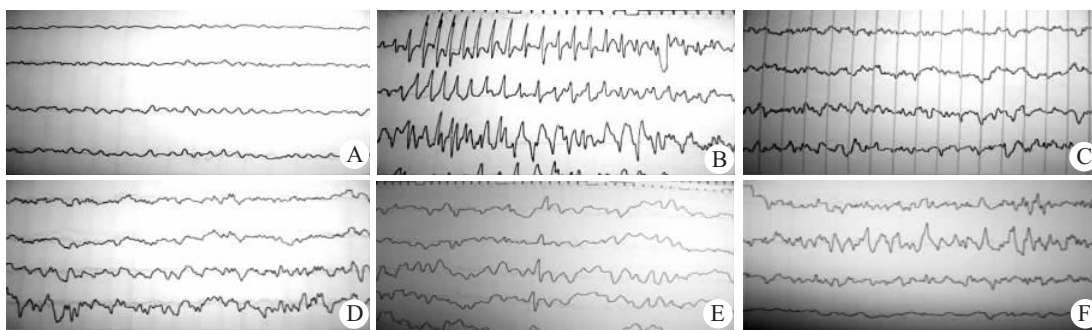


图 2 各组大鼠脑电图

Fig.2 EEG of each group

A: Blank control group; B: Normal saline group; C: Sodium valproate group; D: High-dose saikosaponins group; E: Medium-dose saikosaponins group; F: Small-dose saikosaponins group

### 3 讨论

癫痫是以神经元阵发性异常放电并导致突然、反复和短暂的中枢神经系统功能失常为特征,神经元兴奋性增加及过度同步化放电可能是产生癫痫的基本条件。经典致痫剂 PTZ 点燃模型被认为是模拟人类癫痫的理想动物模型之一<sup>[9]</sup>。许多学者将 PTZ 腹腔注射或在脑皮质表面应用,成功地诱导出癫痫的动物模型,而 PTZ 本身无特殊的神经毒性作用,是研究癫痫发作与神经元损伤关系的常用模型<sup>[10]</sup>。本研究中腹腔注射 PTZ 对大鼠的慢性点燃率达 100%,说明造模是成功的。

本课题组曾选用青霉素造模成功后给予干预处理,发现柴胡及柴胡皂甙有一定的治疗癫痫作用<sup>[4,6]</sup>。在本研究中则采用 PTZ 腹腔注射同时给予柴胡总皂甙干预处理,探讨柴胡总皂甙对 PTZ 慢性点燃致痫大鼠痫性发作及慢性点燃进程的影响,以期多途径研究柴胡总皂甙抗癫痫作用。研究提示,给予柴胡总皂甙口服的大鼠有 7 只(高、中、低剂量 3 组合计)始终未出现痫性发作,其痫性发作率低于模型组,尤以 2 周时柴胡总皂甙高剂量组明显 ( $P < 0.05$ )。4 周时柴胡

总皂甙高剂量组点燃率也显著低于模型组 ( $P < 0.05$ ), 其余各组包括 VPA 组点燃率虽低于模型组,但统计学处理无显著性意义,可能与样本数不足有关。随服药时间延长,柴胡总皂甙能减少大鼠痫性发作的总例次,尤以第 4 周明显 ( $P < 0.05$ )。对于痫性发作级别的影响,柴胡总皂甙和 VPA 均能降低痫性发作级别,以柴胡总皂甙高剂量组和 VPA 组明显。从部分大鼠脑电图描记结果看,柴胡总皂甙和 VPA 均能抑制大鼠痫性放电,棘波、尖波、棘慢复合波减少。痫性放电与其痫性发作的结果是相吻合的。可见柴胡总皂甙与 VPA 相类似,均能通过抑制 PTZ 慢性点燃大鼠的痫性放电而发挥其拮抗大鼠痫性发作的作用,降低其痫性发作级别,减少痫性发作次数,对抗 PTZ 的慢性点燃,具有一定的阻止 PTZ 慢性点燃进程的作用。柴胡总皂甙是否与 VPA 具有相似的抗痫机制,即通过增加脑内抑制性神经递质含量,降低神经元兴奋性,从而控制痫性发作,尚需进一步研究。

### 参考文献:

[1] ILAE Commission Report. The epidemiology of the epilepsies: fu-



ture directions[J]. *Epilepsia*, 1997, 38: 614-8.

[2] Jallon P. ILAE. Workshop Report: Epilepsy in developing countries [J]. *Epilepsia*, 1997, 38: 1143-51.

[3] 黄运生,陈宝田,谢 炜. 柴胡疏肝汤添加治疗原发性癫痫 108 例疗效观察[J]. *中药材*, 2002, 25(5): 374-6.

[4] 李 静,谢 炜,陈宝田. 柴胡对实验性癫痫大鼠的治疗作用[J]. *中药药理与临床*, 2000, 16(S): 28-30.

[5] 刘 燕,廖卫平,葛发欢. 柴胡有效成分的萃取与抗惊厥作用实验研究[J]. *中医药学报*, 2001, 29(3): 47-9.

Liu Y, Liao WP, Ge FH. The extraction of *Bupleurum chinese* D. C. and research of its anticonvulsion effect [J]. *ACMP*, 2001, 29(3): 47-9.

[6] 黄运生,谢 炜,陈宝田. 柴胡皂甙对癫痫大鼠脑电的影响[J]. *第一军医大学学报*, 2004, 24(12): 1379-81.

Huang YS, Xie W, Chen BT. Effect of saikosaponins of epileptic rat electroencephalogram [J]. *J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 2004, 24(12): 1379-81.

[7] Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation II. Motor seizure [J]. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1972, 32: 281-94.

[8] 张丽萍,王进声,陈 青,等. 戊四唑致痫模型大鼠脑神经元损害及宁痫颗粒的干预作用[J]. *山东中医杂志*, 2004, 23(10): 619-20.

[9] van der Graf PH, Ghijsen W, Voskuyl R, et al. Mechanism-based modeling of adaptive changes in the pharmacodynamics of midazolam in the kindling model of epilepsy [J]. *Pharm Res*, 1999, 16(11): 1702-9.

[10] Holmes GL. Seizure-induced neuronal injury: Animal data [J]. *Neurology*, 2002, 59(9Suppl 5): S3-6.

## 逆行交锁髓内钉治疗股骨远端骨折 31 例分析

魏 巍<sup>1</sup>,李 健<sup>2</sup>,庄 岩<sup>1</sup>,张 堃<sup>1</sup>,王 浩<sup>1</sup>,赵 恺<sup>1</sup>(<sup>1</sup>西安市红十字会医院创伤骨科,陕西 西安 710054;<sup>2</sup>陕西工业职业技术学院卫生所,陕西 咸阳 712000)

**摘要:**目的 探讨逆行交锁髓内钉治疗股骨远端骨折的疗效与特点。方法 2003 年 1 月~2005 年 1 月间对 31 例股骨远端骨折患者采用逆行交锁髓内钉进行手术治疗,术后持续被动运动功能锻炼。结果 所有病例进行半年以上的随访,骨折愈合良好,膝关节功能较满意。结论 逆行交锁髓内钉治疗股骨远端骨折结合膝关节持续被动运动功能锻炼可以获得满意疗效。

**关键词:**交锁髓内固定;股骨骨折;骨折固定术;持续被动运动

**中图分类号:**R683.42 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4254(2006)02-0180-02

股骨远端骨折是一种严重损伤,目前多采用髌钢板及动力髌螺钉等方法,术后内固定物对远端旋转控制不够,骨折不愈合、延迟愈合及膝关节功能障碍发生率较高。我院自 2003 年 1 月以来,采用逆行交锁髓内钉治疗股骨远端骨折,术后行膝关节持续被动运动(CPM)功能锻炼,获得满意效果,现报告如下。

### 1 临床资料

#### 1.1 一般资料

本组 31 例,男 18 例、女 13 例,其中左侧 19 例,右侧 13 例,1 例为双侧。年龄 22~94 岁,平均 41 岁。致伤原因:车祸 20 例,高处坠落伤 3 例,重物砸伤 2 例,摔伤 6 例。闭合性骨折 27 例,开放性骨折 4 例。骨折按 AO 分类法:A1 型 13 例,A2 型 7 例,A3 型 8 例,C1 型 3 例,C2 型 1 例。股骨多段骨折 2 例,合并胫骨骨折 3 例。

#### 1.2 手术方法

所有病例入院后即行骨牵引治疗,手术时间为伤后 2~10 d。均采取闭合或小切口切开骨折端复位逆行交锁髓内钉内固定治疗。做髌韧带前正中切口、膝内侧或前外侧切口,显露髌间窝。如存在髌间骨折,将股骨髌骨折块复位,保证关节面平整,行克氏针临时固定。由髌间窝后又韧带起点的前方 0.5~1 cm 进入,弧形骨锥钻入。扩大髓腔后,选用小于扩髓 1 mm 的钉逐渐用力插入髓腔,直至其远端沉入关节面下 1~2 mm。然后分别锁定远、近侧的交锁螺钉,拆除瞄准器。冲洗伤口,置负压引流,关闭切口。对于开放骨折,先行清创缝合术及灌注冲洗术,7~10 d 行切开复位逆行交锁髓内钉内固定术。

#### 1.3 术后处理

术后第 2 天即开始进行股四头肌锻炼,第 3 天作膝关节 CPM 功能锻炼结合主动锻炼,出院时达到屈膝 90°。术后 3 个月根据骨折愈合情况,逐渐行负重锻炼。

## 2 结果